

基于三种叶绿体基因序列的证据分析阴石粉背蕨和金粉背蕨的关系*

王 弯¹, 杨文利², 窦 平¹, 赵冉冉¹, 张钢民^{1**}

(1 北京林业大学自然保护区学院, 北京 100083; 2 河北农业大学园林与旅游学院, 河北 保定 071000)

摘要: 选择阴石粉背蕨 (*Aleuritopteris humatifolia*) 和金粉背蕨 (*A. chrysophylla*) 及其相关类群共 27 种植物, 提取基因组 DNA, 通过聚合酶链式反应 (PCR) 扩增其叶绿体 *rbcL*, *trnL-F* 和 *matK* 序列, 所得序列利用 ClustalX 软件进行对位排列, 用 MEGA6.0 软件计算种内及种间遗传距离, 并采用最大简约法 (MP) 构建系统发育树。结果显示: 阴石粉背蕨 1 个样品和金粉背蕨 2 个样品的 *rbcL*, *trnL-F* 和 *matK* 序列间差异很小, 最大遗传距离均小于其与其它近缘种的种间最小遗传距离, 结合两个种叶片形态、孢子、囊群盖和根状茎鳞片等形态学特征的对比研究, 作者认为阴石粉背蕨应该作为金粉背蕨的异名处理。

关键词: 阴石粉背蕨; 金粉背蕨; 碎米蕨类; *rbcL*; *trnL-F*; *matK*

中图分类号: Q 75, Q 949

文献标志码: A

文章编号: 2095-0845(2015)03-301-08

The Relationship between *Aleuritopteris humatifolia* and *A. chrysophylla* Based on Three Chloroplast DNA Sequences Analyses

WANG Wan¹, YANG Wen-li², DOU Pin¹, ZHAO Ran-ran¹, ZHANG Gang-min^{1**}

(1 College of Nature Conservation Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2 College of Landscape Architecture and Tourism, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071000, China)

Abstract: Total DNA from 27 species including *Aleuritopteris humatifolia* and *A. chrysophylla* and related taxa was extracted in this research, and the *rbcL*, *trnL-F* and *matK* sequences were amplified and sequenced. The sequences were aligned by ClustalX. The phylogenetic trees were constructed by Maximum parsimony methods and the intraspecific and interspecific genetic distance were computed in MEGA 6.0. The results showed as follows: no significant difference among *rbcL*, *trnL-F* and *matK* sequences of one sample of *A. humatifolia* and two samples of *A. chrysophylla*, and the maximum genetic distance between *A. humatifolia* and *A. chrysophylla* were less than the minimum genetic distance between *A. humatifolia* and other closely related species. Therefore, our study support the taxonomic treatment of reducing *A. humatifolia* to synonym of *A. chrysophylla* based on our phylogenetic analysis combining the evidences from their morphological characters of blades, spores, indusia, and rhizome scales.

Key words: *Aleuritopteris humatifolia*; *A. chrysophylla*; cheilanthoid ferns; *rbcL*; *trnL-F*; *matK*

碎米蕨类 (cheilanthoid ferns) 隶属广义凤尾蕨科碎米蕨亚科 (Cheilantheae) (Smith 等, 2006; Schuettpelz 和 Pryer, 2007; Schuettpelz 等, 2007; Liu 等, 2008; Windham 等, 2009; Christen-

husz 等, 2011), 全世界约 400~500 种。该类群广布于世界各地, 并集中分布于 6 个间断区域: 墨西哥、安地斯山脉、巴西、非洲、中国-喜马拉雅地区和大洋州 (Tryon 和 Tryon, 1973)。与

* 基金项目: 国家自然科学基金 (31270253); 国家基金委重大国际合作项目 (31110103911)

** 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: gary1967@bjfu.edu.cn

收稿日期: 2014-09-15, 2015-02-03 接受发表

作者简介: 王弯 (1989-) 女, 研究生, 硕士, 主要从事分植物系统分类学等领域的研究。E-mail: wangwan1212@126.com

普通蕨类植物不同,碎米蕨类常生长在干旱、半干旱的石质山区或干热河谷,与卷柏类植物混生,是干旱石灰岩山地的代表性植物。其主要特征是体型较小,植株常被有鳞片、毛或蜡质粉状物等,如粉背蕨属(*Aleuritopteris*)。由于形态上的趋同进化,使得碎米蕨类植物的系统分类,特别是类群间的界定十分困难(Tryon 和 Tryon, 1982)。Copeland (1947)认为它是蕨类植物中最令人困惑的类群之一。在国产碎米蕨类植物中,粉背蕨属的种类最多,分类也最为困难,许多种类的处理不同学者意见分歧较大。

粉背蕨属是由法国人 Fée 依据 *Pteris farinosa* Forsk. 为模式于 1852 年创立的,但一直未能引起人们足够的重视,常被并入到 *Cheilanthes* 属下作为一个组。Ching (1941)在恢复粉背蕨属的同时,对中国的类群进行了分类研究。他将该属划分为 3 个组,并记录了 19 种植物。武素功 (1979)将粉背蕨属中的薄叶组独立出来,建立了薄鳞蕨属,随后又对中国粉背蕨属进行了系统的分类研究,发表了部分新类群,承认中国有 25 种(武素功, 1981),后来出版的《中国植物志》基本引用了该分类处理(秦仁昌和邢公侠, 1990)。其中金粉背蕨(*Aleuritopteris chrysophylla* (Hook.) Ching)分布于我国南部和西南部,向西可达尼泊尔和印度。该种区别于其它类群的主要特征是叶背面被金黄色粉末;叶柄红棕色,圆柱形,根状茎及叶柄基部的鳞片为线状披针形,红棕色,无淡色狭边;囊群盖边缘为浅波状,不间断。但是,叶背金黄色这一特征只有在标本干燥后才能清晰可见,新鲜的叶片背面往往呈淡黄色或黄白色。其它微形态特征在野外很难观察,加之该种的居群数量较少,踪迹难觅,导致许多学者对它的形状难以把握。

阴石粉背蕨(*Aleuritopteris humatifolia* X. C. Zhang et L. Shi)是由张宪春和石雷(1994)根据海南岛五指山主峰顶上采集的植物而发表的新种。该种被认为形态接近于银粉背蕨(*A. argentea* (Gmel.) Fée),但植株很小,叶柄细瘦,基部鳞片小,一色,呈红棕色,线状披针形;叶片下面被黄色粉末。由于该植物生长在高海拔的岩石缝,体型较小,叶片卵状五角形,接近银粉背蕨系(五角叶系)的种类,但从叶柄基部的鳞片特征和

叶片下面的被粉情况来看,该种同粉背蕨系的金粉背蕨更为接近。Fraser-Jenkins (1997)虽然不承认粉背蕨属,但他认为阴石粉背蕨和金粉背蕨为同种植物,应予归并。在对我国碎米蕨类植物的研究中,张钢民(2003)对二者的孢子形态、根状茎鳞片特征等进行了系统的比较,认为没有本质的区别,同意 Fraser-Jenkins 的处理意见,并在后来出版的《*Flora of China*》中将阴石粉背蕨处理为金粉背蕨的异名(Zhang 和 Yatskievych, 2013)。

利用形态学性状进行分类在很多时候缺乏遗传基础,现代分子系统学可以为蕨类植物各类群之间的亲缘关系提供可靠的证据,以 PCR 技术为基础,利用特定的 DNA 序列差异以及分子标记(如 RAPD 和 AFLP 等)对蕨类植物种间和变种间关系的研究已有报道(Hennequin 等, 2003; Trewick 等, 2002; Wang 等, 2010)。近年来,越来越多的叶绿体 DNA 序列被证明适合探讨属下等级的亲缘关系,如利用叶绿体基因组的 *rbcL* 序列探讨耳蕨属(*Polystichum*) (Li 等, 2004)、贯众属(*Cyrtomium*) (Lu 等, 2005)和舌蕨属(*Elaphoglossum*) (Skog 等, 2004)等属的种间演化关系;而 *trnL-trnF* 基因间隔区(IGS)是非编码的序列,演化速率比较快,曾被用于探讨粤紫萁 *Osmunda mildei* C. Chr. 的系统位置及遗传关系(勾彩云等, 2008); *matK* 基因一直被应用于构建被子植物的系统发育关系, Kuo 等(2011)首次使用该基因构建了真水龙骨科 I (eupolypods I)和真水龙骨科 II (eupolypods II)的系统树,认为 *matK* 基因非常适合用于蕨类植物的分子系统学研究; Zhang 等(2007)利用 *rbcL* 和 *trnL-trnF* 序列构建亚洲(主要是中国)碎米蕨类植物的系统关系,但并未涉及金粉背蕨和阴石粉背蕨,同时利用叶绿体基因组 *matK* 序列对碎米蕨类植物的研究至今未见报道。

本文扩增阴石粉背蕨和金粉背蕨的 *rbcL*, *trnL-F* 和 *matK* 基因序列,利用多基因序列的分子遗传学证据来确定两者的亲缘关系,为探讨碎米蕨类群植物的种间关系及其演化提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 材料

采集本研究所需 27 种健康植株的新鲜叶片,将其

置变色硅胶迅速干燥，带回实验室，以备 DNA 提取。详细采集信息见表 1（名称和分类采用《中国植物志》），序列信息见表 2。

1.2 研究方法

1.2.1 植物总 DNA 提取 总 DNA 的提取采用改良的 CTAB 方法 (Doyle 和 Doyle, 1987)，取植物干燥叶片 0.2 g 用于 DNA 提取，0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测，调整各模板质量浓度至 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右， 4°C 贮存备用。

1.2.2 PCR 扩增及序列测定 扩增反应在 Eppendorf 梯度 PCR 扩增仪上进行。反应体积为 $20 \mu\text{L}$ ， $1 \mu\text{L}$ DNA 模板， $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ dNTPs， $10 \times \text{buffer}$ ， $5 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物，TaqDNA 聚合酶 1 U。

扩增程序为 94°C 预变性 4 min； 94°C 变性 30 s， 52°C 退火 40 s， 72°C 延伸 1 min，35 个循环； 72°C 延伸 10 min； 10°C 降温 10 min。*rbcL* 基因序列的扩增和测序用的正反引物分别是 ESRBCLIF 和 ESRBCL1361R (Schuettpelez 和 Pryer, 2007)，*trnL-F* 基因间隔区序列的扩增和测序用的正

反引物分别是 e 和 f (Taberlet 等, 1991)，*matK* 基因序列的扩增和测序用的正反引物分别是 FERmatK fEDR 和引物 FERmatK rAGK (Kuo 等, 2011)。

扩增产物经 1.0% 琼脂糖电泳后用 Gene Genius Bio imaging system 凝胶成像系统观察，2 000 bp Plus DNA Marker 为标准分子量标记。

PCR 产物纯化及 DNA 序列测定委托北京诺赛基因组研究中心有限公司进行。为避免实验误差，保证测序准确性，每个样品都作两次重复。

1.2.3 数据分析 所有序列经过序列拼接软件整理，用 ClustalX 1.83 软件运算全局联配 (Complete Alignment)，进行多序列的对位排列 (Thompson 等, 1997)。对位排列后用 MEGA6.0 软件进行序列分析和遗传距离计算 (Kimura, 1981)，遗传距离采用 Kimura-2 参数遗传距离。最大简约法 (Maximum parsimony, MP) 构建系统发育树，系统树分支节点置信度的评价用自展检验 (Bootstrap, BP) 表示，自展数据集为 1 000 (Koichiro 等, 2013)。

表 1 实验材料信息以及本研究所获得的 GenBank 收录号

Table 1 Samples information and GenBank accession numbers for taxa generated in this study

物种 Species	采集人 Gatherer	采集地 Locality	凭证标本 Voucher
金粉背蕨 1 <i>Aleuritopteris chrysophylla</i> 1	张宪春 Zhang Xianchun	广西金秀 Guangxi Jinxiu	043 (PE)
金粉背蕨 2 <i>A. chrysophylla</i> 2	张钢民 Zhang Gangmin	云南大理苍山 Yuannan Dali	2014069 (BJFC)
阴石粉背蕨 <i>A. humatifolia</i>	毛星星 Mao Xingxing	海南五指山 Hainan Wuzhishan	HN2012122009 (BJFC)
陕西粉背蕨 <i>A. shensiensis</i>	毛星星 Mao Xingxing	北京西山 Beijing Xishan	M2012092701 (BJFC)
银粉背蕨 <i>A. argentea</i>	毛星星 Mao Xingxing	北京西山 Beijing Xishan	M2012092702 (BJFC)
白边粉背蕨 <i>A. albomarginata</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川天全县 Sichuan Tianquan	M2012071001 (BJFC)
阔盖粉背蕨 <i>A. grisea</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川凉山 Sichuan Liangshan	2013080706 (BJFC)
毛叶粉背蕨 <i>A. squamosa</i>	毛星星 Mao Xingxing	海南省东方市 Hainan Dongfang	HN2012121601 (BJFC)
雪白粉背蕨 <i>A. niphobola</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川金川县 Sichuan Jinchuan	M2012072009 (BJFC)
金爪粉背蕨 <i>A. veitchii</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川宝兴县 Sichuan Baoxing	M2012070708 (BJFC)
假银粉背蕨 <i>A. subargentea</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川金川县 Sichuan Jinchuan	M2012072007 (BJFC)
裸叶粉背蕨 <i>A. duclouxii</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川康定 Sichuan Kangding	M2012071804 (BJFC)
阔羽粉背蕨 <i>A. tamburii</i>	毛星星 Mao Xingxing	云南鸡足山 Yunnan Jizu Mountain	2013090301 (BJFC)
硫磺粉背蕨 <i>A. duclouxii</i> var. <i>sulphurea</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川西昌市 Sichuan Xichang	2013080411 (BJFC)
棕毛粉背蕨 <i>A. rufa</i>	毛星星 Mao Xingxing	云南香格里拉 Yunnan Shangri-la	2013082915 (BJFC)
丽江粉背蕨 <i>A. likiangensis</i>	毛星星 Mao Xingxing	云南鸡足山 Yunnan Jizu Mountain	2013090203 (BJFC)
凤尾旱蕨 <i>Pellaea paupercula</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川康定 Sichuan Kangding	M2012071803 (BJFC)
西南旱蕨 <i>P. smithii</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川金川县 Sichuan Jinchuan	M2012072003 (BJFC)
旱蕨 <i>P. nitidula</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川康定 Sichuan Kangding	M2012071801 (BJFC)
三角羽旱蕨 <i>P. calomelanos</i>	毛星星 Mao Xingxing	云南金沙江 Yunnan Jinshan River	2013081501 (BJFC)
华北薄鳞蕨 <i>Leptolepidium kuhni</i>	毛星星 Mao Xingxing	云南香格里拉 Yunnan Shangri-la	2013082912 (BJFC)
薄叶薄鳞蕨 <i>L. dalhousiae</i>	毛星星 Mao Xingxing	云南大理 Yunnan Dali	2013082605 (BJFC)
绒毛薄鳞蕨 <i>L. subvillosum</i>	毛星星 Mao Xingxing	云南鸡足山 Yunnan Jizu Mountain	2013090303 (BJFC)
小叶中国蕨 <i>Sinopteris albofusca</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川木里县 Sichuan Muli County	2013080612 (BJFC)
金毛裸蕨 <i>Paragymnopteris vestita</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川金川县 Sichuan Jinchuan	M2012072008 (BJFC)
欧洲金毛裸蕨 <i>P. marantae</i>	毛星星 Mao Xingxing	四川康定 Sichuan Kangding	M2012071402 (BJFC)
黑心蕨 <i>Doryopteris concolor</i>	张钢民 Zhang Gangmin	海南霸王岭 Hainan Bawanglin	HN20121215 (BJFC)
戟叶黑心蕨 <i>D. ludens</i>	张钢民 Zhang Gangmin	云南勐腊 Yunnan Mengla	20010139 (PE)

表 2 用于本文系统发育分析的 DNA 序列信息 (本实验获得的序列登录号用正体, 网上下载的序列登录号用斜体表示)

Table 2 DNA sequences information applied to phylogenetic analysis (accession numbers generated in this study are regular script, downloaded from NCBI are Italic)

分类群 Taxon	<i>rbcL</i> 序列号	<i>trnL-F</i> 序列号	<i>matK</i> 序列号
	<i>rbcL</i> sequence Accession No.	<i>trnL-F</i> sequence Accession No.	<i>matK</i> sequence Accession No.
<i>Aleuritopteris chrysophylla</i> 1	KP126956	KP085535	KP031646
<i>A. chrysophylla</i> 2	KP126955	KP085534	KP031645
<i>A. humatifolia</i>	KP126957	KP085526	KP031647
<i>A. shensiensis</i>	KP126958	KP085520	KP031648
<i>A. argentea</i>	<i>AY266410</i>	<i>DQ432667</i>	KP031649
<i>A. albomarginata</i>	<i>AY266411</i>	<i>DQ432665</i>	KP031650
<i>A. grisea</i>	<i>AY299653</i>	<i>DQ432669</i>	KP031651
<i>A. squamosa</i>	<i>DQ432642</i>	KP085521	KP031652
<i>A. niphobola</i>	<i>AY266409</i>	<i>DQ432670</i>	KP031653
<i>A. veitchii</i>	KP126959	KP085523	KP031654
<i>A. subargentea</i>	KP126960	KP085524	KP031655
<i>A. duclouxii</i>	<i>U27447</i>	KP085525	KP031656
<i>A. tamburii</i>	<i>DQ432644</i>	<i>DQ432666</i>	KP031657
<i>A. duclouxii</i> var. <i>sulphurea</i>	KP126961	KP085531	KP031658
<i>A. rufa</i>	KP126962	KP137492	KP031659
<i>A. likiangensis</i>	<i>DQ432645</i>	<i>DQ432668</i>	KP031660
<i>Pellaea paupercula</i>	<i>DQ432640</i>	<i>DQ432664</i>	KP031661
<i>P. smithii</i>	KP126963	KP085527	KP031662
<i>P. nitidula</i>	<i>DQ432638</i>	<i>DQ432662</i>	KP031663
<i>P. calomelanos</i>	<i>GU935497</i>	<i>GU935600</i>	KP031664
<i>Leptolepidium kuhnii</i>	<i>AY266412</i> *	<i>DQ432672</i>	KP031665
<i>L. subvillosum</i>	KP126964	KP085533	KP031666
<i>L. dalhousiae</i>	<i>DQ432646</i>	<i>DQ432673</i>	KP031667
<i>Sinopteris albofusca</i>	<i>DQ432647</i>	<i>DQ432677</i>	KP031668
<i>Paragymnopteris vestita</i>	<i>DQ432652</i>	<i>DQ432682</i>	KP031669
<i>P. marantae</i>	<i>DQ432655</i>	<i>DQ432684</i>	KP031670
<i>Doryopteris concolor</i>	<i>AY266414</i>	<i>DQ432685</i>	KP031671
<i>D. ludens</i>	<i>DQ432657</i>	<i>DQ432686</i>	KP031672

2 结果分析

2.1 序列

本实验扩增得到阴石粉背蕨和金粉背蕨的 *rbcL*, *trnL-F* 和 *matK* 序列, 所有基因序列都已上传至 NCBI 基因库中。*rbcL* 序列对位排列后的长度为 1 254 bp, 变异位点 252 个, 信息位点 142 个, 分别占序列总长度的 20.1% 和 11.3%; *trnL-F* 序列对位排列后的长度为 404 bp, 变异位点 271 个, 信息位点 169 个, 分别占序列总长度的 67.0% 和 41.8%; *matK* 序对位排列后长度为 875 bp, 空位始终作为缺失处理, 变异位点 481 个, 信息位点 298 个, 分别占序列总长度的 54.9% 和 34.0%; 联合序列总长度为 2 533 bp, 变异位

点 953 个, 信息位点 579 个, 分别占序列总长度的 37.6% 和 22.8%。

2.2 分子系统发育树及其分析

为了探讨阴石粉背蕨和金粉背蕨的亲缘关系, 将测定得到的所有序列进行系统发育分析, 采用最常用的系统发育分析方法——MP 法构建系统发育树, 详见图 1。以戟叶黑心蕨和 2 种金毛裸蕨属植物作为外类群, 外类群与内类群明显分割开来, 处于系统发育树的最外侧。采自广西和云南的金粉背蕨样本聚为一强支, 自展支持率高达 100%; 阴石粉背蕨和金粉背蕨强烈聚为一强分支, 自展支持率高达 100%。棕毛粉背蕨、薄叶薄鳞蕨及阔盖粉背蕨聚在一起并与华北薄鳞蕨、

绒毛薄鳞蕨构成的一支形成姐妹群关系，支持率为 100%；这一姐妹群与阴石粉背蕨、金粉背蕨聚为一支，但支持率较低；金爪粉背蕨与丽江粉背蕨构成一强支，毛叶粉背蕨单独一支位于较外侧。早蕨属的 3 个成员聚为一支，自展支持率高达 99%；假银粉背蕨、裸叶粉背蕨等 5 个粉背蕨属成员聚为一强分支，自展支持率为 100%；依次向外的分支是：雪白粉背蕨、小叶中国蕨聚为的一支；阔羽粉背蕨单独一支；三角羽早蕨、黑

心蕨聚为一支，自展支持率为 99%。

2.3 遗传距离及其分析

根据系统发育树所示，选择与阴石粉背蕨和金粉背蕨最近缘的 8 个种类计算遗传距离（表 3）。结果显示，基于联合序列（*rbcL*, *trnL-F* 和 *matK* 序列）计算出：采自两个不同地区的金粉背蕨遗传距离为 0.000，阴石粉背蕨和金粉背蕨 2 个样品的种间最大遗传距离为 0.004，且阴石粉背蕨与其它 8 个近缘种的种间最小遗传距离 0.025。

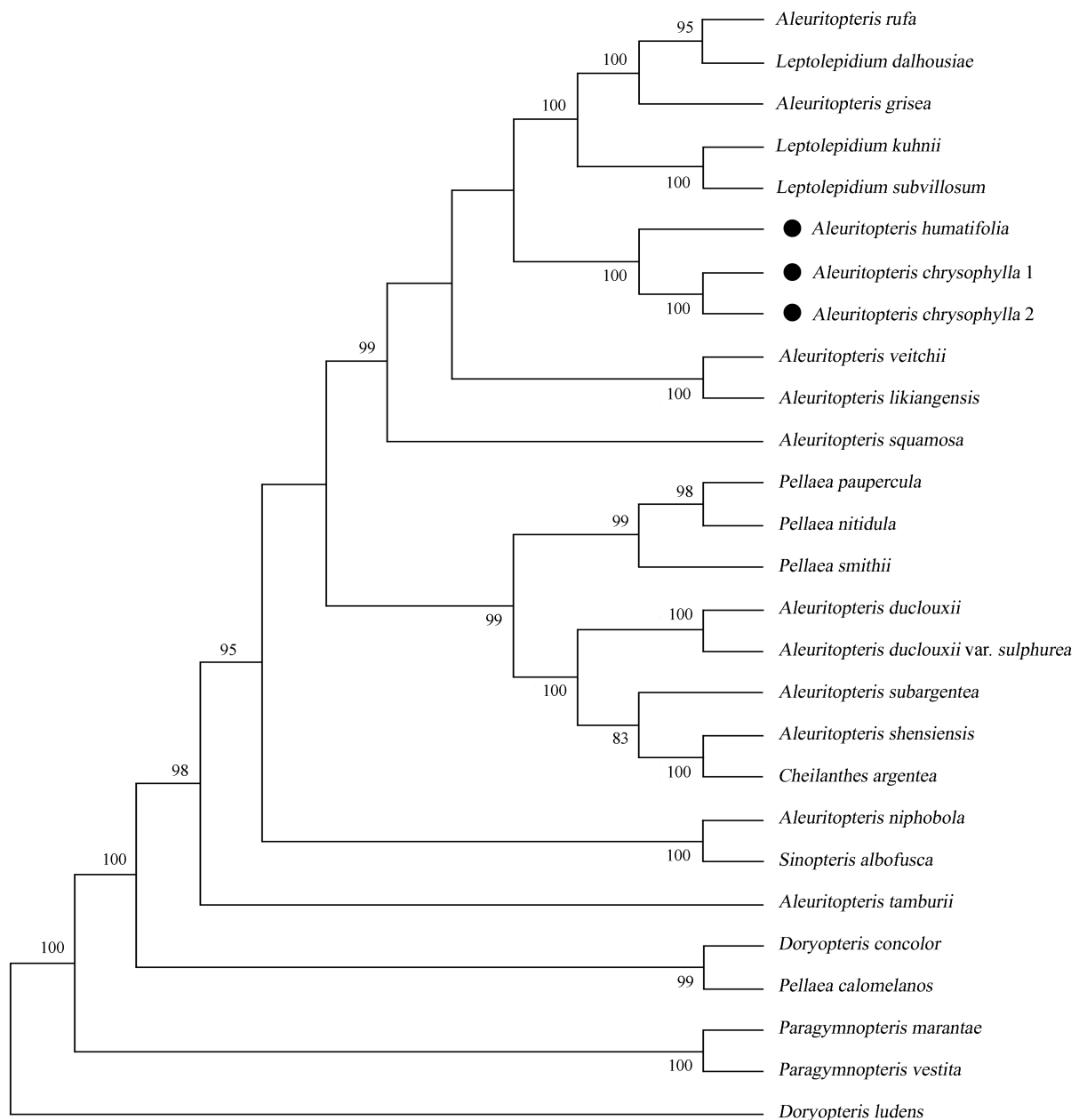


图 1 基于联合序列（*rbcL*, *trnL-F* 和 *matK*）的 MP 树（自展支持率>50%）

Fig. 1 MP Analysis based on combined sequences of *rbcL*, *trnL-F* and *matK* (Bootstrap>50%)

表 3 阴石粉背蕨和金粉背蕨及其近缘类群联合序列 (*rbcL*, *trnL-F* 和 *matK*) 间的遗传距离
Table 3 Genetic distances between combined sequences (*rbcL*, *trnL-F* and *matK*) in
Aleuritopteris humatifolia, *A. chrysophylla* and their close species

分类群 Taxon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Aleuritopteris chrysophylla</i> 1											
<i>A. chrysophylla</i> 2	0.000										
<i>A. humatifolia</i>	0.004	0.004									
<i>A. rufa</i>	0.041	0.041	0.038								
<i>A. grisea</i>	0.036	0.036	0.033	0.015							
<i>A. veitchii</i>	0.028	0.028	0.025	0.038	0.032						
<i>A. squamosa</i>	0.037	0.037	0.036	0.047	0.045	0.035					
<i>A. likiangensis</i>	0.028	0.028	0.025	0.038	0.032	0.032	0.035				
<i>Leptolepidium kuhnii</i>	0.032	0.032	0.029	0.029	0.024	0.030	0.041	0.030			
<i>L. subvillosum</i>	0.032	0.032	0.030	0.030	0.024	0.031	0.040	0.031	0.005		
<i>L. dalhousiae</i>	0.040	0.040	0.037	0.017	0.016	0.038	0.047	0.038	0.030	0.031	

3 讨论

根据已有的研究，阴石粉背蕨和金粉背蕨在孢子体形态上极为相似，如叶簇生，三角形，二回羽状分裂（图 2：A，D）；根状茎先端密被鳞片；鳞片棕色狭披针形（图 2：C，F）；叶干后纸质，下面具黄色粉末；孢子囊群线性，沿裂片边缘延伸，仅裂片先端不育，囊群盖膜质（图 2：B，E），棕色，边缘近全缘，宿存等（秦仁昌和邢公侠，1990；张宪春和石雷，1994）；二者叶柄基部的鳞片特征和叶片下面的被粉情况相同；二者的孢子均是圆形，三裂缝，周壁较厚，疏松地包在孢子之外，表面均为皱状纹饰（于晶等，2001）。

本文根据 *rbcL*，*trnL-F* 和 *matK* 序列系统发育分析的结果显示，在所分析的 27 种碎米蕨亚科及其邻近类群蕨类植物中，阴石粉背蕨和金粉背蕨在简约树上构成一个自展支持率为 100% 的分支，这说明阴石粉背蕨和金粉背蕨的亲缘关系相近。进一步通过 *rbcL*，*trnL-F* 和 *matK* 序列分析阴石粉背蕨、金粉背蕨及其近缘类群的遗传距离显示，阴石粉背蕨和金粉背蕨 2 个样品的种间最大遗传距离为 0.004，远小于阴石粉背蕨与其它 8 个近缘种的种间最小遗传距离 0.025。说明这两个种 *rbcL*，*trnL-F* 和 *matK* 序列差异很小，亲缘关系较其它物种近。结合上面的系统发育分析可以看出，3 个分子序列证据强烈支持阴石粉背蕨和金粉背蕨这两个物种聚为一支，亲缘关系

很近。阴石粉背蕨和金粉背蕨的标本分别采自海南和广西、云南，地理环境的差异可能造成了某些位点上碱基的替换，致使遗传距离没有达到绝对的 0.000。然而，形态方面如：叶片、孢子、囊群盖、根状茎鳞片，分子方面如：系统发育树和遗传距离的证据，均表明阴石粉背蕨和金粉背蕨的亲缘关系很近，因此作者认为阴石粉背蕨应该作为金粉背蕨的异名处理。

金粉背蕨

Cheilanthes chrysophylla Hooker, Sp. Fil. 2: 113. 1852; *Aleuritopteris flavopygmaea* S. R. Ghosh; *A. humatifolia* X. C. Zhang & L. Shi; *Cheilanthes argentea* (S. G. Gmelin) Kunze var. *chrysophylla* (Hooker) Hooker; *C. farinosa* (Forsskål) Kaulfuss var. *chrysophylla* (Hooker) C. B. Clarke.

植株矮小，高 5~15 cm。根状茎短而直立，先端密被线状披针形或披针形的深棕色（同色，无淡色边缘）鳞片（图 2：C，F）。叶簇生，粗约 1 mm，柄长 2~10 cm，圆柱形，红棕色，基部疏被线状披针形鳞片；叶片卵状三角形或五角形，长 2~5 cm，基部宽 2~3 cm，基部二回羽状分裂，上部逐渐羽状分裂，先端长渐尖；叶片上面光滑，下面具淡黄色或乳黄色粉末，干后呈金黄色（图 2：A，D）。孢子囊群由少数孢子囊组成，囊群盖线形，不间断，边缘波状，棕色、膜质（图 2：B，E）；孢子圆球形，表面为皱状纹饰。

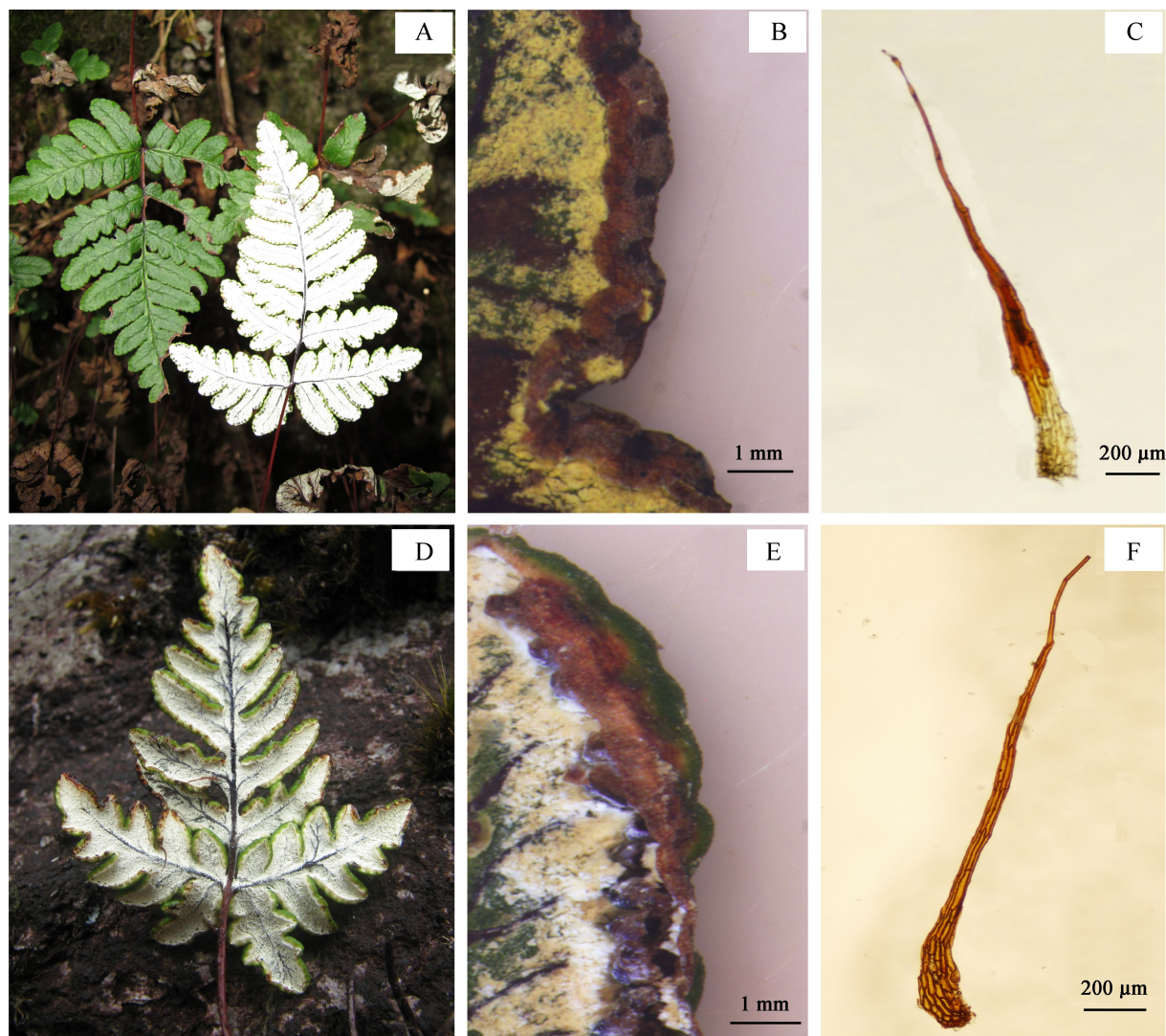


图2 A, B, C 分别为：金粉背蕨的叶片，孢子囊群盖，根状茎鳞片；D, E, F 分别为：阴石粉背蕨的叶片，孢子囊群盖，根状茎鳞片

Fig. 2 A, B, C respectively indicate: The frond, indusium, scale of *Aleurites chrysophylla*; D, E, F respectively indicate: The frond, indusium, scale of *Aleurites humatifolia*

〔参 考 文 献〕

- 秦仁昌, 邢公侠, 1990. 中国植物志 3 卷 (1) [M]. 北京: 科学出版社
- 张钢民, 2003. 中国碎米蕨类及其相关类群的系统学研究 [D] (博士论文). 北京: 中国科学院
- Ching RC, 1941. The studies of Chinese ferns, Part XXXI [J]. *Hong Kong Naturalist* (香港博物学杂志), **Vol. X**: 194—204
- Christenhusz MJM, Zhang XC, Schneider H, 2011. A linear sequence of extant families and genera of lycophytes and ferns [J]. *Phytotaxa*, **19**: 7—54
- Copeland EB, 1947. *Genera Filicum* [M]. Waltham, Mass achusetts: Chronica Botanica Co, 65—82
- Doyle JJ, Doyle JL, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. *Phytochemical Bulletin*, **19**: 11—15
- Fraser-Jenkins CR, 1997. *New Species Syndrome in Indian Pteridology and the Ferns of Nepal* [M]. Dehra Dun (India): International Book Distributors
- Gou CY (勾彩云), Zhang SZ (张寿洲), Geng SL (耿世磊), 2008. Phylogenetic Position and Genetic Relationship of *Osmunda mildei* (Osmundaceae): Evidence from *rbcL* Gene and *trnL-trnF* Region [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), **28** (11): 2178—2183
- Hennequin S, Ebihara A, Ito M *et al.*, 2003. Molecular systematics of the fern genus *Hymenophyllum* s.l. (Hymenophyllaceae)

- based on chloroplastic coding and noncoding regions [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **27**: 283—301
- Kimura M, 1981. Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences [J]. *Journal of Molecular Evolution*, **16**: 111
- Koichiro T, Glen S, Daniel P *et al.*, 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **30**: 2725—2729
- Kuo LY, Li FW, Chiou WL *et al.*, 2011. First insights into fern matK phylogeny [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **59**: 556—566
- Li CX, Lu SG, Yang Q, 2004. Asian origin for *Polystichum* (Dryopteridaceae) based on *rbcL* sequences [J]. *Chinese Science Bulletin*, **49**: 1146—1150
- Liu HM, Wang L, Zhang XC *et al.*, 2008. Advances in the studies of lycophytes and monilophytes with reference to systematic arrangement of families distributed in China [J]. *Journal of Systematics Evolution*, **46** (6): 808—829
- Lu JM, Li DZ, Gao LM *et al.*, 2005. Paraphyly of *Cyrtomium* (Dryopteridaceae): Evidence from *rbcL* and *trnL-F* sequence data [J]. *Journal of Plant Research*, **118**: 129—135
- Schuettpelz E, Pryer KM, 2007. Fern phylogeny inferred from 400 leptosporangiate species and three plastid genes [J]. *Taxon*, **56**: 1037—1050
- Schuettpelz E, Schneider H, Huiet L *et al.*, 2007. A molecular phylogeny of the fern family Pteridaceae: Assessing overall relationships and the affinities of previously unsampled genera [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44**: 1172—1185
- Skog JE, Mickel JT, Moran RC *et al.*, 2004. Molecular studies of representative species in the fern genus *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae) based on chloroplast DNA sequences *rbcL*, *trnL-F*, and *rps4-trnS* [J]. *International Journal of Plant Sciences*, **165**: 1063—1075
- Smith AR, Pryer KM, Schuettpelz E *et al.*, 2006. A classification for extant ferns [J]. *Taxon*, **55**: 705—731
- Taberlet P, Gielly L, Pautau G *et al.*, 1991. Universal primers for amplification of 3 non-coding regions of chloroplast DNA [J]. *Plant Molecular Biology*, **17** (5): 1105—1109
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F *et al.*, 1997. The ClustaX windows interface: flexible strategies for multiple sequences alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nuclear Acids Research*, **24**: 4876—4882
- Trewick SA, Morgan-Richards M, Russell SJ *et al.*, 2002. Polyploidy phylogeography and Pleistocene refugia of the rockfern *Asplenium ceterach*; evidence from chloroplast DNA [J]. *Molecular Ecology*, **11**: 2003—2012
- Tryon RM, Tryon AF, 1973. Geography, spores and evolutionary relations in the cheilanthoid ferns [A]// Jermy AC *et al.* eds., *The Phylogeny and Classification of the Ferns* [M]. London: Academic Press, 145—153
- Tryon RM, Tryon AF, 1982. *Ferns and Allied Plants with Special Reference to Tropical America* [M]. New York: Springer-Verlag, 213—354
- Wang L, Wu ZH, Xiang QP *et al.*, 2010. A molecular phylogeny and a revised classification of tribe Lepisoreae (Polypodiaceae) based on an analysis of four plastid DNA regions [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **162**: 28—38
- Windham MD, Huiet L, Schuettpelz E *et al.*, 2009. Using plastid and nuclear DNA sequences to redraw generic boundaries and demystify species complexes in cheilanthoid ferns [J]. *American Fern Journal*, **99**: 128—132
- Wu SK (武素功), 1979. *Leptolepidium*—A new genus of Sinopteridaceae [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **1** (1): 115—118
- Wu SK (武素功), 1981. The studies of Chinese *Aleuritopteris* [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **19** (1): 57—74
- Yu J (于晶), Wang QX (王全喜), Bao WM (包文美), 2001. Spore morphology of pteridophytes from China Sinopteridaceae [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **39** (3): 224—233
- Zhang GM, Yatskievych G, 2013. Cheilantheoideae [A]// Wu ZY, Raven PH eds., *Flora of China* Vol. 2-3 [M]. Beijing: Science Press, St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 216—237
- Zhang GM, Zhang XC, Chen ZD *et al.*, 2007. First insights in the phylogeny of Asian cheilanthoid ferns based on sequences of two chloroplast markers [J]. *Taxon*, **56**: 369—378
- Zhang XC (张宪春), Shi L (石雷), 1994. Notes on *Aleuritopteris* fern in China [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **32** (1): 93—97